

学位論文の要約

HER2 protein overexpression and gene amplification in
upper urinary tract urothelial carcinoma-an analysis of 171
patients

上部尿路上皮癌における HER2 タンパク過剰発現
および遺伝子増幅について
—171 症例を用いた解析—

Yuka Sasaki

佐々木 由佳

Department of Molecular Pathology

Graduate School of Medicine, Yokohama City University

横浜市立大学 大学院医学研究科 医科学専攻 分子病理学

(Doctoral Supervisor: Ichiro Aoki, Professor)

(指導教員：青木 一郎 教授)

HER2 protein overexpression and gene amplification in upper urinary tract urothelial carcinoma-an analysis of 171 patients

<http://www.ijcep.com/files/ijcep1311041.pdf>

◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇本 文◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇

171 症例の上部尿路上皮癌（尿管あるいは腎盂の尿路上皮癌）手術症例を用いて、human epidermal growth factor receptor type 2（以下 HER2）タンパク過剰発現および遺伝子増幅について検索し、臨床病理学的因子との関連を考察した。

今回の 171 症例はこれまでの報告の中では最多の症例数であり、また免疫染色 (immunohistochemistry: 以下 IHC) 法によりタンパク過剰発現を、dual-color in situ hybridization (以下 DISH) 法により遺伝子増幅をとともに全症例で検索した論文はこれまでにない。

2. 実験材料と方法

171 症例の上部尿路上皮癌（腎盂癌 76 症例、尿管癌 46 症例および 49 症例の尿管-腎盂癌＝尿管と腎盂の両方に癌がある症例）の HER2 タンパク過剰発現および遺伝子増幅を検索した。171 症例は 1996 年から 2012 年までに東大病院にて尿路上皮癌のため腎尿管摘出手術

を受けた症例で、男性 119 症例、女性 52 症例である。なお本研究は東京大学医学部倫理委員会の承認を受けて行った。

－病理組織学的評価－

1 名の病理専門医が全症例を再鏡検し、腫瘍の組織型および組織学的異型度 (Grade) 等は WHO 分類を、病理組織学的病期は pTNM 分類を用いて行った。

－免疫染色および遺伝子検索－

HER2 タンパク発現は IHC 法を、遺伝子増幅は DISH 法を用いて行った。それぞれの症例から組織マイクロアレイヤー(tissue microarray:以下 TMA; Beecher Instruments, Silver Spring, MD, USA)を用いて癌の部分から径 2mm の core を 1 症例につき 2 本採取してブロックを作製した。IHC 法の評価は乳癌の ASCO/CAP ガイドライン(Wolff AC, et al. 2007)および胃癌の ToGA 試験(Bang YJ, et al. 2010)の推奨を併用して行った。一方 HER2 遺伝子増幅の評価は DISH 法を用いて ASCO/CAP の推奨に従って行った。

－統計学的解析－

統計学的解析には SAS ソフトウェア (version 9.3, SAS Institute, Cary, NC, USA)を用いた。両側検定で P 値は 0.05 未満を有意差ありと判定した。臨床病理学的因子との関連にはカイ 2 乗検定を用いた。また病期の進行、特に手術後の膀胱再発の検討に関しては Kaplan–Meier 法を用いて解析した。さらに単変量解析および多変量解析を用いて検討した。

3. 結果

－HER2 タンパク過剰発現・遺伝子増幅－

IHC 法では 171 症例中 140 症例(81.9%)が score 0 または score 1, 17 症例(9.9%)が score 2, 14 症例(8.2%)が score 3 であった。一方遺伝子増幅に関しては 31 症例(18.1%)で増幅が認められた。タンパク過剰発現と遺伝子増幅との間には強い相関が認められた ($p<0.0001$)。HER2 タンパク発現 score 3 の 14 症例および HER2 タンパク score 2 かつ HER2 遺伝子増幅が認められた 9 症例の合計 23 症例(13.5%)を HER2 陽性癌として臨床病理学的因子との相関を考察した。

－臨床病理学的因子との相関－

年齢に関しては 70 歳以上に HER2 陽性癌が多く認められた($p=0.0132$)。腫瘍の局在に関しては腎盂に癌が限局している 76 症例では HER2 陽性癌は 1 症例も認められなかった ($p<0.0001$)。組織学的異型度との相関では Grade 3 の 97 症例中 HER2 陽性癌は 21 症例(21.7%)であったのに対して、Grade 1 または Grade 2 の 74 症例中では HER2 陽性癌はわずかに 2 症例(2.7%)であった ($p=0.0003$)。また高度異型上皮内癌が併存して認められた 83 症例中 HER2 陽性癌は 17 症例(20.5%)であったのに対して非併存 83 症例中、HER2 陽性癌はわずかに 6 症例 (6.6%)であった ($p=0.0089$)。HER2 陽性癌とその他の臨床病理学的因子との間には相関が認められなかった。また Kaplan–Meier 法を用いた解析では HER2 陽性癌は腎尿管摘出手術後の膀胱再発までの期間が有意に短いことが示された (log-rank $p=0.0284$)。また HER2 陽

性癌は単変量解析のみならず多変量解析でも膀胱再発に関する予測因子として統計学的に有意差が認められた(ハザード比 3.70, $p=0.0034$).

4. 考察

*** -HER2 タンパク過剰発現と遺伝子増幅- ***

尿路上皮癌に関しては HER2 タンパク過剰発現および遺伝子増幅は報告によってかなり差が認められる (HER2 タンパク過剰発現は 0%から 89%、遺伝子増幅は 0%から 59%) . またタンパク過剰発現と遺伝子増幅とは相関しないという報告も見られる(Caner V, et al. 2008). その理由の 1 つとして IHC 法では胃癌で見られる U 字型あるいは側方-基底部陽性像が挙げられる. これらの細胞は従来の乳癌での評価方法では不完全な陽性細胞として陽性としなない腫瘍細胞であったが, 胃癌 ToGA 試験では陽性として判定すべきであることが治療奏功性を加味した検証から推奨された. 今回この ToGA 試験での評価を参考にすることでタンパク過剰発現と遺伝子増幅との間に高い相関性を示す結果となった.

*** -HER2 陽性癌- ***

今回は HER2 タンパク発現が score 3 (13 症例) と HER2 タンパク発現 score 2 の症例のうち HER 遺伝子増幅を示した 9 症例の合計 23 症例(13.5%)を HER2 陽性癌と定義した. HER2 遺伝子増幅 31 症例を全例 HER2 陽性癌としなかった理由としては, 胃癌 ToGA 試験で HER2 遺伝子増幅症例中, HER2 タンパク発現が score 0 または score 1 であった症例のサブグループ解析ではトラスツズマブ投薬による抗腫瘍効果が得られなかったという報告を参考にした (Bang YJ, et al., 2010) .

HER2 陽性癌は統計学的有意差を持って 70 歳以上に多く認められたが、過去には尿路上皮癌と年齢との相関を検討した報告が少なく、検討したもののでも相関なしという報告が見られるのみである (Jelovac D, et al. 2012; Krüger S, et al. 2006). 一般的には高齢になるほど手術や強い化学療法等が難しくなることから、分子標的薬治療が有用である可能性があり、尿路上皮癌で HER2 の状態を把握することは治療の観点から重要であると考えられた.

また今回 171 症例中 76 症例が腎盂尿路上皮癌であったが、1 例も HER2 陽性癌が認められなかった. 過去の論文では Langner C ら (Langner C, et al. 2005) が 53 症例の上部尿路上皮癌で HER2 タンパク発現を検討しているが、score 3 症例はなく、上部尿路上皮癌では HER2 をターゲットとした分子標的治療の恩恵にあずかれないと結論づけている. しかし彼らの上部尿路上皮癌は 53 症例中 48 症例 (90.5%) が腎盂癌で、尿管癌は 5 症例のみであり、腎盂癌が多かったため score 3 症例が認められなかった可能性があることが今回の研究結果と一致していると考えられる.

また HER2 陽性癌は Grade 3 の高度異型尿路上皮癌での発現率が有意に高かったが、これは過去の報告と一致するものであった. さらに HER2 陽性癌では高異型度上皮内癌を併存している症例が多いことが示されたが、このことを言及している論文は過去にはなく、重要な結果と考えられた. 膀胱癌では筋層に浸潤していない浸潤性膀胱癌の場合でも高異型

度上皮内癌が併存する症例では膀胱摘出を推奨するというヨーロッパ泌尿器科学会ガイドラインもあり，分子標的治療により拡大手術を回避できる可能性があると考えられる．

また HER2 陽性癌は手術後の膀胱再発までの期間が有意に短いことが示された．過去の報告では上部尿路上皮癌術後に 30-51%の症例で膀胱内再発が報告されているが，膀胱内再発までの期間を言及した論文はない．さらに多変量解析でも HER2 陽性は膀胱内早期再発に関して独立した予測因子であることが示された（表 1）．

5. 結語

HER2 陽性癌は多変量解析において膀胱内早期再発の独立した予測因子であることが示され，上部尿路上皮癌でも HER2 発現を把握することが重要であると考えられた(表 1)．

（表 1）術後膀胱再発における各因子での単変量解析および多変量解析結果

	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	(95% CI)	p value	HR	(95% CI)	p value
HER2 positivity	2.19	(1.07 – 4.51)	0.0325	3.70	(1.54 – 8.87)	0.0034
Sex (female vs. male)	0.76	(0.41 – 1.38)	0.3625	0.75	(0.39 – 1.46)	0.4003
Age (≥70 vs. <70)	0.79	(0.47 – 1.35)	0.3959	0.60	(0.33 – 1.10)	0.0994
Side (right vs. left)	1.09	(0.65 – 1.82)	0.7563	1.02	(0.59 – 1.79)	0.9395
Tumor location (ureter vs. renal pelvis)	1.36	(0.81 – 2.29)	0.2513	1.45	(0.79 – 2.67)	0.2347
Tumor architecture (sessile vs. papillary)	0.82	(0.44 – 1.51)	0.5170	0.78	(0.36 – 1.69)	0.5212
Histological grade (Grade 1,2 vs. Grade 3)	0.70	(0.42 – 1.18)	0.1818	0.34	(0.14 – 0.83)	0.0173
Concomitant carcinoma <i>in situ</i> (present vs. absent)	0.99	(0.58 – 1.67)	0.9637	1.53	(0.78 – 3.02)	0.2187
Tumor stage (pT3-pT4 vs.pTa-pT2)	0.92	(0.54– 1.55)	0.7433	1.00	(0.34 – 2.94)	0.3399
Lymphovascular invasion (present vs. absent)	1.24	(0.73 – 2.09)	0.4317	1.65	(0.68 - 4.03)	0.2719
Lymph node metastasis (present vs. absent)	1.30	(0.62 – 2.76)	0.4874	2.24	(0.85 – 5.90)	0.1040

CI, confidence interval; HR, hazard ratio.

6. 引用文献

Alexa A, Baderca F, Zăhoi DE, Lighezan R, Izvernariu D, Raica M. (2010), Clinical significance of Her2/neu overexpression in urothelial carcinomas. *Rom J Morphol Embryol*, 51, 277-82.

Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK, ToGA Trial Investigators. (2010), Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction

cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*, 376, 687-97.
Caner V, Turk NS, Duzcan F, Tufan NL, Kelten EC, Zencir S, Dodurga Y, Bagci H, Duzcan SE. (2008), No strong association between HER-2/neu protein overexpression and gene amplification in high-grade invasive urothelial carcinomas. *Pathol Oncol Res*, 14, 261-6.

Jelovac D, Wolff AC. (2012), The adjuvant treatment of HER2-positive breast cancer. *Curr Treat Options Oncol*, 13, 230-9.

Krüger S, Weitsch G, Büttner H, Matthiensen A, Böhmer T, Marquardt T, Sayk F, Feller AC, Böhle A. (2002), Overexpression of c-erbB-2 oncoprotein in muscle-invasive bladder carcinoma: relationship with gene amplification, clinicopathological parameters and prognostic outcome. *Int J Oncol*, 21, 981–987.

Langner C, Gross C, Rehak P, Ratschek M, Rüschoff J, Zigeuner R. (2005), HER2 protein overexpression and gene amplification in upper urinary tract transitional cell carcinoma: systematic analysis applying tissue microarray technique. *Urology*, 65, 176-80.

Marie Vershasselt-Crinquette, Pierre Colin, Adil Ouzzane, Viviane Gnemmi, Yves-Marie Robin, Sebastien Aubert, Arnauld Villers, Xavier Leroy. (2012), Assessment of human epidermal growth factor receptor 2 status in urothelial carcinoma of the upper urinary tract: a study using dual-color in situ hybridization and immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 20, 363-6.

Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF; American Society of Clinical Oncology; College of American Pathologists. (2007), American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol*, 25, 118-45.

論文目録

I. 主論文

HER2 protein overexpression and gene amplification in upper urinary tract urothelial carcinoma-an analysis of 171 patients

Yuka Sasaki, Takeshi Sasaki, Taketo Kawai, Teppei Morikawa, Keisuke Matsusaka, Akiko Kunita, Haruki Kume, Ichiro Aoki, Yukio Homma, Masashi Fukayama

J Clin Exp Pathol 2014;7(2):699-708

II. 副論文

なし

III. 参考論文

なし